

## Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

## Обща информация

## Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP е генетично модифицирана клетъчна линия, получена от майчината линия на човешкия остеосарком U-2 OS. Тази клетъчна линия включва целенасочено вмъкване на мономерен подобрен зелен флуоресцентен протеин (mEGFP) в локуса на гена NUP96, постигнато чрез технологията за редактиране на гени CRISPR-Cas9. NUP96, част от комплекса на ядрените пори, е от съществено значение за ядрения транспорт, а сливането му с mEGFP позволява визуализиране на динамиката на ядрените пори в реално време под флуоресцентна микроскопия, което предоставя ценни данни за механизмите на ядрения транспорт и ядреноцитоплазмения трафик.

Този специфичен клон, номериран с номер 195, е избран заради стабилната експресия на фюжън протеина NUP96-mEGFP и поддържа типичните характеристики на линията U-2 OS, включително здрава цитоскелетна структура, която е от решаващо значение при изследвания, свързани с миграцията и метастазирането на раковите клетки. Прилагането на технологията CRISPR осигурява прецизно редактиране на гените, като свежда до минимум ефектите извън целта, които биха могли да компрометират целостта на експерименталните резултати. Това прави U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP клонинг № 195 особено полезен за техники за визуализация с висока резолюция и подробни изследвания на клетъчната архитектура, подпомагащи напредналите изследвания в областта на клетъчната биология, изследванията на рака и ядрените транспортни явления.

<b>Organism</b>	Човек
<b>Tissue</b>	Bone
<b>Disease</b>	Остеосарком

## Характеристики

<b>Age</b>	15 години
<b>Gender</b>	Жена
<b>Ethnicity</b>	Кавказки
<b>Morphology</b>	Подобни на епител
<b>Growth properties</b>	Придържачи се

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mEGFP клон № 195 (каталожен номер на Cytion 300174)
-----------------	---

## Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FJ**Depositor** Лабораторията на Елѝнбърг (EMBL)

**GMO Status** GMO-S1: Тази човешка клетъчна линия на остеосарком (U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP, клон 195) съдържа CRISPR-инженерен синтез NUP96-mEGFP, въведен чрез лентивирусно доставяне, което позволява флуоресцентно проследяване на комплексите на ядрените пори. Модификацията е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

## Биомолекулярни данни

**Protein expression** MEGFP (белтък на комплекса на ядрената пора 96, маркиран с mEGFP)

## Работа с

**Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на статията в Cytion 820200a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS, 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Seeding density** 2 до 3 x 10<sup>4</sup> клетки/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично

**Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174****Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

## Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mEGFP | 300174

### Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.